重组病毒杀虫剂应用研究进展

蒋　洪[1,2]，韩亚娟[1]，胡　柳[1]，张珈敏[1]，胡远扬[1]

(1. 武汉大学病毒学国家重点实验室，环球生物农药武汉大学联合研发中心，武汉　430072；
2. 武汉大学基础医学院病原生物学系，武汉　430072)

摘要：应用分子生物学技术可以将昆虫特异性的毒素基因、某些酶基因等外源基因插入昆虫病毒基因组，或通过改造昆虫病毒基因组等方法构建重组病毒杀虫剂，提高杀虫效果。温室及田间释放实验证实，重组病毒杀虫剂可以显著提高现场防治效果。连续多代抗性筛选实验表明，宿主被诱导产生对重组病毒杀虫剂抗性的速度低于野生型病毒杀虫剂。采用在剂型中添加光增白剂等保护剂、在基因组中插入具有增效作用的基因、应用病毒增强蛋白等技术可以提高重组病毒杀虫效果。随着基因工程技术的发展和安全性研究的深入，以重组杆状病毒为主的重组昆虫病毒杀虫剂的应用研究正面临着突破。

关键词：重组病毒杀虫剂；杆状病毒；生物防治；杀虫效果；抗性

中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2008)03-0323-06

Advances in application of recombinant insect viruses as biopesticides

JIANG Hong[1,2]，HAN Ya-Juan[1]，HU Liu[1]，ZHANG Jia-Min[1]，HU Yuan-Yang[1] (1. Global Bio Pesticide Limited & Wuhan University Joint R&D Centre，State Key Laboratory of Virology，Wuhan 430072，China；2. Department of Medical Parasitology，Medical School，Wuhan University，Wuhan 430072，China)

Abstract：Biological control of agricultural and urban pests has gained importance in recent years due to increased pressure to reduce the use of chemical insecticides and their residues in the environment and food. Insect viruses are valuable natural control agents and have been genetically modified to improve their insecticidal activity. Recombinant insect viruses are efficacious in the laboratory，greenhouse and field trials. After 17 generations of selection，the level of resistance to the treated recombinant baculovirus insecticide was twice as great as that of their control line. This is among the lowest levels of resistance evolved to a baculovirus. The insecticidal efficacies can be promoted by adding adjuvant agents into formulations like fluorescent brighteners or expressing enhancins in viral infection. Hopefully，the negative influence of social perception of genetically modified organisms on biotechnological research will gradually decrease and recombinant insect viruses will be introduced as an important biological factor in the near future.

Key words：Recombinant insect virus；baculovirus；biological control；insecticidal efficacy；resistance

微生物，包括病毒、细菌、真菌、原生动物、线虫等作为生物防治因子，最早由昆虫病理学家提出，其应用可以追溯到 19 世纪末(Steinhaus，1956，1975)。由于昆虫病毒对宿主昆虫有较高的致病性，对天敌安全，不污染环境，尤其是它能在害虫种群中形成流行病而长期控制害虫密度等优点，正显示日益强大的生命力(洪华珠和杨洪，1995；Szewczyk *et al*.，2006)。以往本领域的研究主要由分子病毒学专家进行，关注于重组病毒杀虫剂的构建和安全性研究(王福山等，1995；袁哲明和游兰韶，2001；张俊杰和张友清，2001；惠丰立和彭建新，2002；林同和张传溪，2003)。本文综述了重组病毒杀虫剂的温室及田间释放、抗性、杀虫增效技术等应用领域的研究结果，展望了重组病毒杀虫剂的发展趋势。

1　昆虫病毒杀虫剂概述

1975 年美国环保总局批准了第一个杆状病毒

基金项目：国家自然科学基金项目(30370962)

作者简介：蒋洪，男，1965 年 4 月生，博士后，研究员，主要从事城市有害生物防治和昆虫分子病毒学研究，E-mail：insectvirus@gmail.com

收稿日期 Received：2007-07-16；接受日期 Accepted：2007-11-12

杀虫剂产品(Elcar)登记，其有效成分为美洲棉铃虫核型多角体病毒(*Heliothis zea* NPV)，用于防治棉花害虫(Ignoffo and Garcia，1981)。截止 2005 年 12 月 16 日，在美国登记的病毒杀虫剂有 7 种病毒 10 个产品(EPA website，2007)，在我国登记的则有 28 个病毒杀虫剂产品(13 种病毒，包括 1 种重组病毒，上述产品绝大多数有效成分为杆状病毒)(中国农药信息网，2007)。据报道，巴西每年有 6 千万亩次的大豆种植地采用黎豆夜蛾核型多角体病毒(*Anticarsia gemmatalis* multi-nuclear polyhedrosis virus，AgMNPV)防治黎豆夜蛾。施用病毒杀虫剂不仅可以比化学农药每年节省 110 万美元，由此获得的生态效益更是巨大(Corrêa-Ferreira *et al*.，2000；Moscardi *et al*.，2002)。

但是，野生性的昆虫病毒用作杀虫剂也存在很多限制。与化学杀虫剂相比，病毒杀虫剂杀虫速度慢，在害虫被控制以前，可能已经造成了较大的损失。病毒杀虫剂还有对紫外线敏感，需要活体增殖等缺点。另外，病毒对宿主的专一性导致的杀虫谱狭窄也限制了其作为生物防治因子的广泛应用(Hu and Vlak，1997)。

应用现代分子生物学技术，可以将对昆虫特异性的毒素基因，调控昆虫代谢、发育的基因及某些酶基因等外源基因插入昆虫病毒基因组以构建重组病毒杀虫剂，提升控制宿主的效率；或通过删除、修饰昆虫病毒基因组内的某些基因也可以增强病毒的杀虫效率，扩大病毒的宿主域，有利于昆虫病毒的应用(Maeda，1995；Miller，1995；Hu and Vlak，1997；Robert *et al*.，1997；Inceoglu *et al*.，2001)。英国牛津大学的 Bishop(1986)首先开始进行重组杆状病毒增强病毒杀虫效果的实验，1988 年起重组杆状病毒杀虫剂的研究成为生物防治领域的热点(Carbonell *et al*.，1988；Stewart *et al*.，1991；Tomalski and Miller，1991)。

2　重组病毒杀虫剂温室及田间释放研究进展

插入蝎特异性昆虫神经毒素基因 *AaIT* 构建的重组苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 AcMNPV 温室和田间释放实验证明，该重组病毒可以加快宿主昆虫的死亡，减少害虫对作物的损失。施用重组病毒后，烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 在死亡前 5 ~ 11 h 即由于蝎神经毒素作用从植物叶子上跌落，不能再自行攀上植物，但是仍有摄食能力。因此，重组病毒与野生型 AcMNPV 相比，不仅可以使害虫对作物的摄食量减少 65%，而且由于害虫不在作物叶面上死亡和虫尸液化，提高了农作物的品质(Cory *et al*.，1994；Hoover *et al*.，1995)。大田释放实验进一步表明，插入 AaIT 的重组美洲棉铃虫核型多角体病毒 HzSNPV (Hz-AaIT)对棉铃虫的毒力是用同样方法构建的重组 AcMNPV 的 1.3 倍。当施用剂量为 5×10^{11} ~ 12×10^{11} OB/hm^2 时，Hz-AaIT 防治棉铃虫的效果要稍好于苏云金芽孢杆菌，类似大环内酯类杀虫剂和多杀菌素(spinosad)，略逊于某些菊酯类和氨基甲酸酯类农药的防治效果(Treacy *et al*.，2000)。

插入外源基因后，杆状病毒的致病性，如对宿主的致死时间、宿主死亡后分解时间等，往往发生显著变化，进而改变了病毒的增殖、种群密度、分布等生物学特性。研究显示，野生型 AcMNPV 及分别插入 *AaIT* 和保幼激素酯酶(JHE)构建的重组 AcMNPV (AcMNPV.AaIT，AcMNPV.JHE)感染宿主粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*，虽然 AcMNPV.AaIT 对宿主的死亡时间显著缩短，但是感染野生型 AcMNPV 的宿主虫尸液化和分解较快，并且每个幼虫产生的病毒数分别是 AcMNPV.JHE 和 AcMNPV.AaIT 的 1.5 倍和 3.1 倍。温室实验显示，施用病毒 1 周后，作物叶面上野生型、AcMNPV.JHE 和 AcMNPV.AaIT 3 种病毒粒子的密度分别为 126，19 和 5 POB/38.5 mm^2，相互间差异显著(Fuxa *et al*.，1998)。

重组昆虫病毒对不同宿主的现场防治效率可能不同。与野生型的 AcMNPV 相比，插入 *AaIT* 的重组 AcMNPV 可以加快粉纹夜蛾死亡，但是对甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 防治效率很低，并且与野生型的没有显著差异。大田释放的重组病毒在 5 天后，叶面残留量急剧降低，重组和野生型 AcMNPV 对宿主的死亡时间和死亡率与释放的剂量没有显著的线形关系，这与实验室的研究结果不同(Hernàndez-Crespo *et al*.，1999)。重组杆状病毒防治害虫效率的发挥还与释放的时间有关。大田实验显示，在棉铃虫发生的初期进行防治，插入蝎特异性昆虫神经毒素基因 LqhIT2 构建的 AcMNPV 和 HzSNPV 重组病毒防治效果要优于野生型和常规化学防治效果。但是，如果在害虫密度最高峰出现的 3、4 天后进行释放，重组型和野生型的病毒防治效果没有显著差异，均未取得明显的防治效果(Smith *et al*.，2000)。

在中国，重组病毒的田间释放实验主要围绕中国棉铃虫病毒(*Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus，HaSNPV)进行。实验显示，缺失 UDP 葡萄糖基转移酶基因 *egt*、缺失 *egt* 并插入 *AaIT* 构建的 2 株重组 HaSNPV 病毒田间释放可以显著缩

短棉铃虫死亡时间。与野生型相比，施用 108 h 后，作物损失分别减少 50% 和 63%。连续 2 年田间施用结果表明，缺失 *egt* 并插入 *AaIT* 构建的双效重组 HaSNPV 病毒与野生型相比，皮棉单产分别提高 22.2% 和 20.7%（Sun *et al*.，2002，2004）。

插入东亚钳蝎 *Buthus martensi* Karsch 蝎昆虫毒素基因 *BmKIT*1 构建的重组黑胸大蠊浓核病毒（*Periplaneta fuliginosa* densovirus，PfDNV）在 6×10^4 病毒/g 剂量下，与野生型 PfDNV 混合，对黑胸大蠊的半致死时间（LT_{50}）为 10.04 天，比单用野生型毒饵的 LT_{50} 缩短 32.0%，两者在统计学上有显著差异（$P < 0.001$）。模拟现场实验证实，应用重组 PfDNV 与野生型 PfDNV 混合毒饵控制黑胸大蠊，在第 5 天即有试虫死亡，28 天杀灭率可以达到 90.3%。摄食重组病毒毒饵的黑胸大蠊感染发病后，首先四肢麻痹，腹部着地，爬行迟缓，死亡多为平卧，症状比摄食野生型 PfDNV 毒饵感染发病的蟑螂症状快速而明显（Jiang *et al*.，2007）。

3 重组病毒抗性研究进展

对昆虫毒素的毒理学研究发现，AaIT 等用于增强重组昆虫病毒杀虫效率的昆虫毒素与拟除虫菊酯一样，具有相似的作用效果，均攻击昆虫细胞膜上的钠离子通道。但是昆虫毒素与此类化学杀虫剂在钠离子通道中的作用位点不同，不产生交叉抗性，因而具有协同作用（Bloomquist，1996；Zlotkin，1999）。实验表明，插入 *AaIT* 构建的重组昆虫病毒 AcMNPV.AaIT 与氯氰菊酯等拟除虫菊酯类杀虫剂、氨基甲酸酯类杀虫剂具有协同增效作用，但是野生型的 AcMNPV 与常用的化学杀虫剂复配却表现轻微的拮抗作用。AcMNPV.AaIT 还可以有效防治对拟除虫菊酯类杀虫剂产生抗性的烟芽夜蛾，其对烟芽夜蛾抗性品系的防治效果甚至超过未诱导抗性的敏感品系（McCutchen *et al*.，1997）。

研究显示，野生型病毒杀虫剂在连续多代选择压力下可以产生对病毒的抗性。黎豆夜蛾核型多角体病毒 AgMNPV 在巴西被长期、大量地用于防治大豆害虫黎豆夜蛾，但是在美国较少应用。在实验室内用 AgMNPV 进行连续多代抗性筛选，经过 13 ~ 15 代处理，巴西的黎豆夜蛾种群对 AgMNPV 产生了 1 000倍抗性。美国的黎豆夜蛾种群经过 4 代筛选，也产生了 4 倍抗性（Abot *et al*.，1996）。同样是在巴西，粉纹夜蛾用 AgMNPV 经过 26 代的选择，对野生型粉纹夜蛾核型多角体病毒（*Trichoplusia ni* nucleopolyhedrovirus，TnSNPV）产生了 22 倍的抗性。将此品系的粉纹夜蛾用插入 *AaIT* 构建的重组病毒 AcNPV.AaIT 筛选诱导抗性，以评价昆虫宿主对重组病毒杀虫剂的抗性发展。经过 17 代的筛选，该抗性品系的粉纹夜蛾诱导出对重组病毒 AcMNPV.AaIT 4 倍的抗性。未经上述用野生型 TnSNPV 26 代筛选诱导的粉纹夜蛾敏感品系，同样经过 AcMNPV.AaIT 17 代的选择，也发展了对 AcMNPV.AaIT 2 倍的抗性。敏感品系在获得对 AcMNPV.AaIT 抗性的同时，也会产生对 TnSNPV 的交叉抗性。进一步实验表明，抗 AcMNPV.AaIT 品系宿主的发育时间、蛹质量、产卵率、孵化率等主要生理指标与野生型抗性品系的宿主无显著差异（Milks and Theilmann，2000）。

虽然宿主可以对重组病毒杀虫剂产生抗性，但是抗性的发展速度显著低于对野生型的病毒杀虫剂。马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* 用颗粒体病毒（*Phthorimaea operculella* granulosis virus，PoGV）经过 10 代筛选，可以诱导出 6 倍的抗性（Briese and Mende，1983）。草地夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 用草地夜蛾核型多角体病毒（*Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus，SfNPV）经过 7 代筛选，可以诱导出 4.5 倍的抗性（Fuxa and Richard，1988）。前述粉纹夜蛾经 17 代筛选，仅诱导出对 AcMNPV.AaIT 4 倍的抗性。

4 重组病毒杀虫剂增效技术研究进展

病毒杀虫剂的组成除有效成分昆虫病毒粒子外，还必须添加一些助剂，以达到增效、分散、缓释、稳定等作用，提高现场应用效果。与其他微生物杀虫剂一样，病毒杀虫剂可以用常规施药器械释放，但是在控制策略上，与一般的化学农药有很大区别（Lacey *et al*.，2001；张建军等，2004）。

释放于环境中的杆状病毒最大的威胁来自于日光中的紫外线，在日光直射下，其大部分活性在 24 h 内消失。光增白剂是一类用于细菌活体染色的物质，它可以连接细菌细胞壁并且能够穿越细胞壁。上个世纪 80 年代起，光增白剂被用于研究增效病毒杀虫剂（Darken，1961；Martignoni and Iwai，1985）。研究显示，反二苯代乙烯衍生的光增白化合物不仅可以减少太阳射线对杆状病毒的损伤，而且可以提高杆状病毒对宿主昆虫的感染性，加快害虫的死亡时间。在制剂中加入 1% 的此类光增白剂，可以将斜

纹夜蛾核型多角体病毒 SpltNPV 对宿主斜纹夜蛾的 LD50 降低 2 200 倍以上,大大提高了病毒杀虫剂的效率。病毒毒性提高的同时,伴随着宿主围食膜的损伤,可能有利于病毒粒子侵入中肠上皮细胞(Okuno *et al*.,2003)。

将可以修复紫外线对 DNA 损伤的嘧啶二聚体糖基化酶基因插入杆状病毒基因组,构建可以表达嘧啶二聚体糖基化酶的重组 AcMNPV 病毒。在 sf21 细胞中培养后的空斑实验显示,重组病毒比野生型病毒对紫外光的忍耐力提高了 3 倍。虽然在宿主昆虫体内未观察到重组病毒比野生型病毒更耐受紫外辐射,但是却发现,重组病毒可以提高对草地夜蛾的毒力,加快死亡时间(Petrik *et al*.,2003)。

Tanada(1959)早就发现,如果美洲粘虫 *Pseudaletia unipuncta* 被 NPV 和 GV 同时感染,将会表现出更严重的感染症状,加快其死亡。随后研究证实,美洲粘虫颗粒体病毒(*Pseudaletia unipuncta* GV),粉纹夜蛾颗粒体病毒(*Trichoplusia ni* GV)等颗粒体病毒、舞毒蛾核型多角体病毒(*Lymantria dispar* MNPV),甘蓝夜蛾核型多角体病毒(*Mamestra conWgurata* NPV),薄荷灰夜蛾多粒包埋型核型多角体病毒(*Rachiplusia ou* MNPV)等多角体病毒的包涵体中含有一类可以增强 NPV 对宿主昆虫感染的蛋白。此类蛋白属于金属蛋白酶,可以破坏宿主昆虫食道中的围食膜,有利于病毒入侵。由于它们在功能和蛋白序列上有一定的同源性,统称其为病毒增强蛋白 enhancin(Hara *et al*.,1976;Hashimoto *et al*.,1991;Corsaro *et al*.,1993;Popham *et al*.,2001;Li *et al*.,2003)。研究还发现,在昆虫痘病毒亚科某些种中,也存在着一类病毒增强因子(enhancing factor,EF),可以大大增强 NPV 对宿主昆虫的感染。EF 在昆虫痘病毒的球状体和纺锤体中都存在,并且对 NPV 都有同等的增效作用(Wijonarko and Hukuhara,1998)。近年研究发现,在耶尔森氏菌 *Yersinia pestis* 和炭疽芽孢杆菌 *Bacillus anthracis* 基因组中也存在着与病毒增强蛋白序列有 24% ~ 25% 同源性的类似基因。将该基因转入 AcMNPV 基因组,表达的蛋白具有细胞毒性,但是未表现出与病毒增强蛋白一样的增效作用(Galloway *et al*.,2005)。

甘蓝夜蛾 MacoNPV(*Mamestra configurata* nucleopolyhedrovirus)增强蛋白由 847 个氨基酸组成,分子量为 98 kD,含有一个保守的、广泛存在于金属蛋白酶中的锌离子结合域。将编码该增强蛋白的基因插入不含增强蛋白基因的 AcMNPV 基因组,构建表达增强蛋白的重组 AcMNPV 病毒。将重组 AcMNPV 病毒感染粉纹夜蛾幼虫,实验显示产生的多角体比野生型的少 4.4 倍,但是在同样剂量下,重组病毒的毒力没有增加(Li *et al*.,2003)。

5　重组病毒杀虫剂展望

目前重组病毒杀虫剂的研究重点仍是杆状病毒的基因工程,在提高杀虫效率的同时增加安全性(Rajendra *et al*.,2006;Li *et al*.,2007)。随着病毒学研究的深入,浓核病毒、质型多角体病毒、野田村病毒、小 RNA 病毒等众多昆虫病毒的分子生物学信息逐渐清晰,为构建重组病毒奠定了基础,并将改变重组病毒杀虫剂中杆状病毒一枝独秀的现状。

病毒杀虫剂规模化生产目前都以虫体增殖的方式进行,具有投资少、生产工艺简单、成本适中等优点。重组病毒由于表达了外源基因,增殖时宿主表现出进食少、发育缓慢、虫体小、死亡快等症状,因而影响重组病毒的收获。虽然重组病毒可以大大提高病毒杀虫剂的控制效率,在其大规模应用之前,还必须解决生产的难题,达到商品化生产的要求。

目前昆虫病毒杀虫剂的发展趋势是寻找新的昆虫病毒、完善病毒杀虫剂的田间施用技术,改进剂型,降低生产成本,扩大商用。在美国、中国、印度等对转基因技术态度较为积极的国家,研发重点已经转向利用基因工程技术重组昆虫病毒,提高杀虫活性领域。在经过安全性充分评估后,中国已经有一种重组病毒获得登记并进入环境释放。可以相信,未来将有更多的重组病毒获得批准,应用于农林害虫、城市害虫的综合防治。

参考文献(References)

Abot AR, Moscardi F, Fuxa JR, Sosa-gomez DR, Richter AR, 1996. Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. *Biol. Contr.*, 7:126 – 130.

Bishop DL, 1986. UK release of genetically marked virus. *Nature*, 323:496 – 496.

Bloomquist JR, 1996. Ion channel as targets for insecticides. *Annu. Rev. Entomol.*, 41:163 – 190.

Briese DT, Mende HA, 1983. Selection for increased resistance to a granulosis virus in the potato moth, *Phthorimaea operculella*. *Bull. Entomol. Res.*, 73:1 – 9.

Carbonell LF, Hodge MR, Tomalski MD, Miller LK, 1988. Synthesis of a gene coding for an insect-specific scorpion neurotoxin and attempts to express it using baculovirus vectors. *Gene*, 73(2):409 – 418.

China Pesticide Information Network，2007. Effective Ingredients of Pesticides. www.chinapesticide.gov.cn/sjzx/yxcf. [**中国农药信息网**，2007. **农药有效成分**. www.chinapesticide.gov.cn/sjzx/yxcf.]

Corrêa-Ferreira BS，Domit LA，Morales L，Guimarães RC，2000. Integrated soybean pest management in Micro River Basins in Brazil. *Integrated Pest Management Reviews*，5(2)：75 – 80.

Corsaro BG，Gijzen M，Wang P，Granados RR，1993. Baculovirus enhancing proteins as determinants of viral pathogenesis. In：Beckage NE，Thompson SN，Federici BA eds. Parasites and Pathogens of Insects. Academic Press，San Diego. 2：127 – 145.

Cory JS，Hirst ML，Williams TW，Hails RS，Goulson HD，Green BM，Carty TM，Possee RD，Cayley PJ，Bishop DHL，1994. Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. *Nature*，370：138 – 140.

Darken MA，1961. Applications of fluorescent brighteners in biological techniques. *Science*，133：1 704 – 1 705.

EPA website，2007. Biopesticide Active Ingredient Fact Sheets. www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients.

Fuxa JR，Richard AR，1988. Resistance of *Spodoptera furgiperda* (Lep.：Noctuidae) to a nuclear virus in the field and laboratory. *Entomophaga*，33：55 – 63.

Fuxa JA，Fuxa JR，Richter AR，1998. Host-insect survival time and disintegration in relation to population density and dispersion of recombinant and wild-type nucleopolyhedroviruses. *Biol. Contr.*，12：143 – 150.

Galloway CS，Wang P，Winstanley D，Jones IM，2005. Comparison of the bacterial enhancin-like proteins from *Yersinia* and *Bacillus* spp. with a baculovirus enhancin. *J. Insect. Pathol.*，90：134 – 137.

Hara S，Tanada Y，Omi EM，1976. Isolation and characterization of a synergistic enzyme from the capsule of a granulosis virus of the armyworm，*Pseudaletia unipuncta*. *J. Invertebr. Pathol.*，27：115 – 124.

Hashimoto Y，Corsaro GB，Granados PR，1991. Location and nucleotide sequence of the gene encoding the viral enhancing factor of the *Trichoplusia ni* granulosis virus. *J. Gen. Virol.*，72：2 645 – 2 651.

Herna′ndez-Crespo P，Hails RS，Sait HS，Green BM，Carty TM，Cory JS，1999. Response of hosts of varying susceptibility to a recombinant baculovirus insecticide in the field. *Biol. Contr.*，16：119 – 127.

Hong HZ，Yang H，1995. The development of viral insecticides. *Chinese Journal of Biological Control*，11(2)：84 – 88. [**洪华珠，杨洪**，1995. **病毒杀虫剂的发展方向**. **中国生物防治**，11(2)：84 – 88]

Hoover K，Schultz CM，Lane SS，Bonning BC，Duffey SS，McCutchen BF，Hammock BD，1995. Reduction in damage to cotton plants by a recombinant baculovirus that knocks moribund larvae of *Heliothis virescens* off the plant. *Biol. Contr.*，5：419 – 426.

Hu ZH，Vlak JM，1997. Engineering of biosafe baculoviruses with improved insecticidal properties：Development and prospects. *Virologica Sinica*，12(1)：14 – 25.

Hui FL，Peng JX，2002. Research development of recombinant baculovirus insecticides. *Biotechnology*，12(4)：43 – 45. [**惠丰立，彭建新**，2002. **重组杆状病毒杀虫剂研究进展**. **生物技术**，12(4)：43 – 45]

Ignoffo CM，Garcia C，1981. The nucleopolyhedrosis virus of *Heliothis* species as a microbial pesticide. In：Burges HD ed. Microbial Control of Pests and Plant Diseases. Academic Press，London. 329 – 362.

Inceoglu AB，Kamita SG，Hinton AC，Huang Q，Severson TF，Kang K，Hammock BD，2001. Recombinant baculoviruses for insect control. *Pest Management Science*，57：981 – 987.

Jiang H，Zhang JM，Wang JP，Yang B，Lliu CF，Lu J，Hh YY，2007. Genetic engineering of *Periplaneta fuliginosa* densovirus as an improved biopesticide. *Arch. Virol.*，152：383 – 394.

Lacey AL，Frutos R，Kaya HK，Vail P，2001. Insect pathogens as biological control agents：Do they have a future? *Biol. Contr.*，21：230 – 248.

Li H，Tang H，Harrison RL，Bonning BC，2007. Impact of a basement membrane-degrading protease on dissemination and secondary infection of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus in *Heliothis virescens* (Fabricus). *J. Gen. Virol.*，88(4)：1 109 – 1 119.

Li Q，Li L，Moore K，Donly C，Theilmann DA，Erlandson M，2003. Characterisation of *Mamestra configurata* nucleopolyhedrovirus enhancin and its functional analysis via expression in an *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus recombinant. *J. Gen. Virol.*，84：123 – 132.

Lin T，Zhang CX，2003. The biosafety of recombinant baculovirus insecticides. *Acta Entomologica Sinica*，46(2)：244 – 249. [**林同，张传溪**，2003. **重组杆状病毒杀虫剂的生物安全性**. **昆虫学报**，46(2)：244 – 249]

Maeda S，1995. Further development of recombinant baculovirus insecticides. *Current Opinion in Biotechnology*，6：313 – 319.

Martignoni ME，Iwai PJ，1985. Laboratory evaluation of new ultraviolet absorbers for protection of Douglas-fir tussock moth (Lepidoptera：Lymantriidae) baculovirus. *J. Econ. Entomol.*，78(4)：982 – 987.

McCutchen BF，Hoover K，Preisler HK，Betana MD，Herrmann R，Robertson JL，Hammock BD，1997. Interactions of recombinant and wild-type baculoviruses with classical insecticides and pyrethroid-resistant tobacco budworm (Lepidoptera：Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*，90(5)：1 170 – 1 180.

Milks ML，Theilmann DA，2000. Serial selection for resistance to a wild-type and to a genetically modified nucleopolyhedrovirus in *Trichoplusia ni*. *Biol. Contr.*，19(3)：283 – 289.

Miller LK，1995. Genetically engineered insect virus pesticides：Present and future. *J. Invertebr. Pathol.*，65：211 – 216.

Moscardi F，Marales L，Santos B，2002. The successful use of AgMNPV for the control of velvet caterpillar，*Anticarsia gemmatalis*，in soybean in Brazil. In：Proceedings of the VIII International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control and XXXV Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology，Foz do Iguassu，Brazil. 86 – 91.

Okuno S，Takatsuka J，Nakai M，Ototake S，Masui A，Kunimi Y，2003. Viral-enhancing activity of various stilbene-derived brighteners for a *Spodoptera litura* (Lepidoptera：Noctuidae) nucleopolyhedrovirus. *Biol. Contr.*，26：146 – 152.

Petrik DT，Iseli A，Montelone BA，van Etten JL，2003. Improving baculovirus resistance to UV inactivation：increased virulence resulting from expression of a DNA repair enzyme. *J. Invertebr. Pathol.*，82(1)：50 – 60.

Popham HJR，BischoV DS，Slavicek JM，2001. Both *Lymantria dispar*

nucleopolyhedrovirus enhancin genes contribute to viral potency. *J. Virol.*, 75：8 639－8 648.

Rajendra W, Hackett KJ, Buckley E, Hammock BD, 2006. Functional expression of lepidopteran-selective neurotoxin in baculovirus：potential for effective pest management. *Biochim. Biophys. Acta*, 1 760(2)：158－163.

Robert DP, Anna LB, Rachael EH, Linda AK, 1997. Engineered baculoviruses for pest control. *Pesticide Science*, 51(4)：462－470.

Smith CR, Heinz KM, Sansone CG, Flexner JL, 2000. Impact of recombinant baculovirus applications on target *Heliothines* and nontarget predators in cotton. *Biol. Contr.*, 19：201－214.

Steinhaus EA, 1956. Microbial control：The emergence of an idea. *Hilgardia*, 26：107－116.

Steinhaus EA, 1975. Disease in a minor cord. Ohio State University Press, Columbus, OH.

Stewart LM, Hirst M, López Ferber M, Merryweather AT, Cayley PJ, Possee RD, 1991. Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. *Nature*, 352：85－88.

Sun XL, Chen XW, Zhang ZX, Wang HL, Bianchi FJ, Peng HY, Vlak JM, Hu ZH, 2002. Bollworm responses to release of genetically modified *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedroviruses in cotton. *J. Invertebr. Pathol.*, 81：63－69.

Sun XL, Wang HL, Sun XC, Chen XW, Peng CM, Pan DM, Jehle JA, Werf WVD, Vlak JM, Hu ZH, 2004. Biological activity and field efficacy of a genetically modified *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedrovirus expressing an insect-selective toxin from a chimeric promoter. *Biol. Contr.*, 29：124－137.

Szewczyk B, Hoyos-Carvajal L, Paluszek M, Skrzecz I, Lobo de Souza M, 2006. Baculoviruses-re-emerging biopesticides. *Biotechnol. Adv.*, 24(2)：143－160.

Tanada Y, 1959. Synergism between two viruses of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. *J. Insect Pathol.*, 1：215－231.

Tomalski MD, Miller LK, 1991. Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. *Nature*, 352：82－85.

Treacy MF, Rensner PE, All JN, 2000. Comparative insecticidal properties of two nucleopolyhedrovirus vectors encoding a similar toxin gene chimer. *J. Econ. Entomol.*, 93(4)：1 096－1 104.

Wang FS, Zhu FX, Qi YP, 1995. The development of engineered recombinant viral insecticide. *China Biotechnology*, 15(4)：26－28. [王福山,朱反修,齐义鹏,1995. 基因工程重组杆状病毒杀虫剂研究进展. 生物工程进展，15(4)：26－28]

Wijonarko A, Hukuhara T, 1998. Detection of a virus enhancing factor in the spheroid, spindle, and virion of an entomopoxvirus. *J. Insect Pathol.*, 72：82－86.

Yuan ZM, You LS, 2001. Review of recombinant baculovirus insecticides. *Journal of Hunan Agricultural University* (*Natural Sciences*), 27(6)：494－498. [袁哲明，游兰韶，2001. 重组昆虫杆状病毒杀虫剂研究进展. 湖南农业大学学报(自然科学版)，27(6)：494－498]

Zhang JJ, Zhou CG, Guo GZ, Zhang LM, 2004. Research progress in the synergy of the baculovirs insecticdes. *Journal of Shandong Agricultural University*, 35(1)：154－158. [张建军，周成刚，郭光智，张乐民，2004. 杆状病毒杀虫剂增效途径研究进展. 山东农业大学学报(自然科学版)，35(1)：154－158]

Zhang JJ, Zhang YQ, 2001. Progress on the research of recombinant baculoviral insecticides. *Chinese Journal of Biological Control*, 17(4)：179－183. [张俊杰，张友清,2001. 重组杆状病毒杀虫剂的研究进展. 中国生物防治，17(4)：179－183]

Zlotkin E, 1999. The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. *Annu. Rev. Entomol.*, 44：429－455.

（责任编辑：黄玲巧）